

Влияние криопротекторов группы оксиэтилированных производных глицерина на структуру и фазовые переходы модельных липидных мембран

А.О. Красникова¹, Н.А. Касян¹, О.В. Ващенко¹, Л.Н. Лисецкий¹,
А.М. Компаниец², А.В. Зинченко², Д.В. Соловьев³, Л.А. Булавин⁴

¹Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, г. Харьков

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

³Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, Россия

⁴Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, г. Киев

Effect of Oxyethylated Glycerol Cryoprotectants on Model Lipid Membranes Structure and Phase Transitions

A.O. Krasnikova¹, N.A. Kasian¹, O.V. Vashchenko¹, L.N. Lisetski¹,

A.M. Kompaniets², A.V. Zinchenko², D.V. Soloviov³, L.A. Bulavin⁴

¹Institute for Scintillation Materials, National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

³Joint Institute of Nuclear Research, Dubna, Russia

⁴Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine

Установление взаимодействия криопротекторов с клеточными мембранами является важным этапом подготовки к хранению биологических объектов. Для выяснения некоторых аспектов этого взаимодействия используют модельные фосфолипидные мембраны.

Цель данной работы – установление влияния криопротекторов группы оксиэтилированных производных глицерина (ОЭГ_n) со степенями полимеризации $n = 5, 25$ и 30 на фазовые состояния и переходы, структурные параметры модельных липидных мембран.

Модельные липидные мембраны на основе дипальмитоилфосфатидил-холина (ДПФХ) были приготовлены на субфазах вода/ОЭГ_n и вода/глицерин с варьированием концентрации криопротектора от 0 до 100 мас.%. Фазовые переходы в системах ДПФХ/вода/ОЭГ_n и ДПФХ/вода/глицерин исследовали методом дифференциальной сканирующей калориметрии с помощью микрокалориметра «DSC 1» («Mettler», Швейцария) и методом малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) с помощью спектрометра «SmAxs-3000» («Rigaku», Япония). Методом МУРР определяли период повторяемости D бислоев ДПФХ в гелевой (L_{β}), складчатой (P_{β}) и жидкокристаллической (L_{α}) фазах.

Показано, что замена воды на ОЭГ_n приводит к существенному увеличению температур предперехода ($L_{\beta} \rightarrow P_{\beta}$) и плавления ($P_{\beta} \rightarrow L_{\alpha}$) модельной мембраны. При этом влияние криопротектора возрастает в ряду $OEG_{n=5} > OEG_{n=25} > OEG_{n=30}$, что может быть связано с уменьшением удельного количества групп, участвующих в сольватации ДПФХ. Пик плавления сохраняется вплоть до 100 мас.% ОЭГ_n, что вместе с данными МУРР свидетельствует о сохранении мультибислоидной организации модельных мембран.

Обнаружено возрастание энтальпии плавления мембраны в присутствии глицерина и ОЭГ_{n=5}, что может свидетельствовать о переходе мембраны в интердигитированную фазу геля ($L_{\beta 1}$). Показано увеличение D в L_{β} -фазе и уменьшение D в L_{β} -фазе для системы ДПФХ/вода/глицерин с повышением концентрации глицерина, что подтверждает образование $L_{\beta 1}$ -фазы. При этом во всех фазах системы ДПФХ/вода/ОЭГ_{n=5} D снижается с увеличением концентрации криопротектора. Это, вероятно, обусловлено уменьшением толщины водной прослойки, а не липидного бислоя, как при фазовом переходе $L_{\beta} \rightarrow L_{\beta 1}$. Выявлены различные температурные зависимости D в L_{α} -фазе в присутствии глицерина и ОЭГ_{n=5}.

Studying of cryoprotectant interactions with cell membranes is an important step in preparing to a storage of biological specimens. To elucidate some aspects of these interactions, the model phospholipid membranes are used.

The aim of this work was the establishing of the effects of oxyethylated glycerol cryoprotectants (OEG_n) with polymerization degree $n = 5, 25$ and 30 on phase states, phase transitions and structural parameters of model lipid membranes.

Model lipid membranes based on dipalmitoyl phosphatidyl choline (DPPC) were obtained on water/OEG_n and water/glycerol subphases with cryoprotectant concentration varied within 0 to 100 % w/w. Phase transitions in DPPC/water/OEG_n and DPPC/water/glycerol systems were studied by differential scanning calorimetry (DSC) by means of Mettler DSC 1 calorimeter (Switzerland) and small-angle X-ray scattering (SAXS) by means of SmAxs-3000 spectrometer (Rigaku, Japan). Lamellar repeat distances, D , in gel (L_{β}), ripple (P_{β}) and liquid crystal (L_{α}) phases were determined by SAXS.

It was demonstrated that water substitution by OEG_n led to a substantial increase of the pre-transition ($L_{\beta} \rightarrow P_{\beta}$) and melting ($P_{\beta} \rightarrow L_{\alpha}$) temperatures. This effect increases in the row $OEG_{n=5} > OEG_{n=25} > OEG_{n=30}$, which can be attributed to lowering of the relative number of groups that contribute to the DPPC solvation. Melting peak persists up to 100% w/w OEG_n, which together with SAXS data shows that the membrane multilamellar structure is preserved under these conditions.

Increase of melting enthalpy was detected in the presence of glycerol and OEG_{n=5}, which indicated the interdigitated ($L_{\beta 1}$) gel phase formation. For DPPC/water/glycerol system, the D values increased together with glycerol concentration in L_{α} phase and decreased in L_{β} phase. This evidenced for $L_{\beta 1}$ phase formation in this system. However, in DPPC/water/OEG_{n=5} system, D decreased together with OEG_{n=5} concentration in all phases. This could be ascribed to depletion of the water interlayer thickness rather than decreasing of the lipid bilayer thickness, which was characteristic for $L_{\beta} \rightarrow L_{\beta 1}$ phase transition (interdigitation). Different temperature behavior of the D values in L_{α} phases for glycerol and OEG_{n=5} were observed and discussed.

